

Speier Gábor professzornak “Az imidazolgyűrű szerepe a fémmegkötésben: Oldalláncban több donorcsoportot tartalmazó peptidek és származékaik átmenetifém komplexeinek egyensúlyi és redoxi sajátosságai” című MTA doktori értekezéséről írt opponensi véleményére

Nagyon köszönöm Bírálómnak a doktori értekezés és a tézisek alapos áttanulmányozását és köszönöm a munkámról, a dolgozatról és a tézisekről írt elismerő szavait. Ugyancsak köszönöm, hogy felhívta a figyelmemet a dolgozatban előforduló magyartalan kifejezésekre, pontatlan szóhasználatra, amelyeket természetesen elfogadok.

A megjegyzésekre, kérdésekre, kritikai megjegyzésekre az alábbiakban a bírálatban szereplő sorrendben válaszolok:

1. A dolgozat 1. ábrája felesleges. Mindenki tudja, hogy hogyan néz ki egy tetrapeptid.

Egyetértek, hogy a peptidek szerkezeti képlete közismert, talán valóban felesleges az ábra; miután a bevezető rész röviden a peptidek lehetséges koordinációra képes donorcsoportjait, donoratombjait foglalja össze és ennek követését segítheti az ábra, ezért mutattam be egy tetrapeptid általános képletét.

2. Az egyes ábrákon a koordinálódó atom (ill. atomcsoport) szépen színesen jelenik meg. Nem tudtam rájönni, hogy milyen elv alapján történt a színek kiválasztása. Van példa racionális színre (O vörös, N kék, stb.), de nem mindenütt.

A donoratombok színezésénél általában a modelleknél használt „klasszikus” színekkel jelöltem az oxigént (piros), a ként (sárga) és a nitrogént (kék). Az árnyalatok az eltérő környezetű donoratombokat jelölik (karboxilát-oxigén: piros, karbonil-oxigén: halvány piros); miután a nitrogén donoratomb igen változatos formában vesz részt a fémionok megkötésében, az árnyalatok kiválasztásánál az adott koordinációs módú réz(II)-komplexek színe volt az irányadó, az aminos csoport koordinációjával kék, az aromás nitrogénatomok koordinációjával mélyebb kék, míg a deprotonált amidnitrogének koordinálódásával – azok számának növekedésével – egyre élénkebb lila szín jelenik meg a réz(II) komplexek oldatában. Ennek az asszociációnak köszönhető, hogy a koordinálódó hidroxidcsoportot nem a piros egy árnyalatával jelöltem, hanem zölddel, miután a réz(II) vegyes hidroxido-komplexek esetén általában a nagyobb hullámhosszak felé tolódik az abszorpció maximum.

3. 29. oldal: oxigén helyesen vagy molekuláris oxigén vagy pedig dioxigén.

Köszönöm a megjegyzést, egyetértek.

4. *A 30. oldalon a redoxi potenciál értékek gondolom a normál hidrogen elektróddal szemben vannak megadva.*

Igen, a normál hidrogén elektródra vonatkoztatott értékeket adtam meg.

5. *31. oldal szeparáció. Van erre megfelelő magyar szó is.*

A szóhasználat onnan ered, hogy az anódos és katódos csúcspotenciálok különbségére (ΔE) használjuk a rövidebb csúcsszeparáció kifejezést is. Az említett mondat magyarosabb lett volna, ha „.....a katódos és anódos csúcsok szeparációja nagyobb ...” megfogalmazás helyett a „.....a katódos és anódos csúcsok különbsége nagyobb ...” mondatrészletet írom.

6. *109. ábra. Nagyon nehéz a redoxipotenciál értékeket összevetni, mivel mindig más a vonatkoztatási elektród.*

Köszönöm a megjegyzést, teljesen egyetértek. Az adatok összehasonlítása az eltérő vonatkozási elektródok miatt közvetlenül nehéz. Ezt nagyban megkönnyítette volna a vonatkoztatási elektródokra vonatkozó potenciál érték megadása a táblázat címében: telített kalomel elektród (SCE): +0,244 V (ref: D. T. Sawyer and J. L. Roberts, in *Experimental Electrochemistry for Chemists*, Wiley, New York, 1974, p. 42.), Ag/AgCl elektród: +0,209 V (ref: <http://www.basinc.com/products/ec/sec.html>); vagy egy külön oszlopban az adatok megadása egységesen a normál hidrogén elektródra vonatkoztatva.

7. *117. oldal, 58. ábrájánál a felirat utolsó értékénél a koncentráció dimenziója hiányzik.*

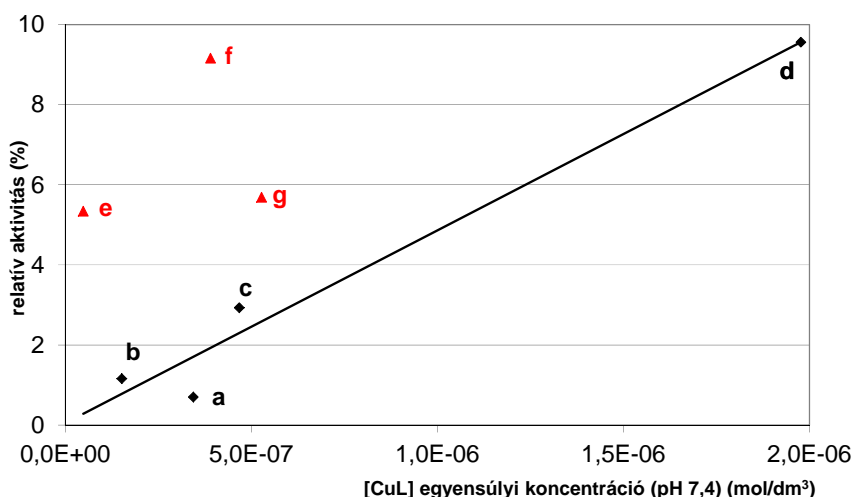
A hiányzó adat: $c(\text{His-BIMA}) = 1,33 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$.

8. *118. oldal, 59. ábra a SOD enzim inhibícióját mutatja be Cu-komplexek jelenlétében. A CuZnSOD és három rézkomplex és ligandum különféle arányú elegye lett felhasználva. Az inhibíciót ábrázolja a koncentráció függvényében. Ezzel kapcsolatban felmerül egy általános kérdés, ami már régóta foglalkoztat. Nevezetesen, milyen molekulafajták vannak egyáltalán jelen az oldatban. Egy vagy több fajta molekulával állunk szemben? Melyik aktív (katalitikusan vagy más szempontból)? Ha például CV-t vagy NMR felvételt készítünk biztos, hogy egy egységes anyag áll az adott pH-n rendelkezésre? Az eloszlási görbéket tekintve szinte majdnem mindig több molekulafajta van jelen egyes pH értékeknél. Melyik hatását vizsgáljuk? Vagy szuperpozícióról van szó? Hogyan interpretálható ez a probléma. Lehet, hogy ez a gond feloldhatatlan ezekben az esetekben?*

Amióta a CV és SOD-aktivitás vizsgálatokat elkezdjük, szembesülünk a feltett kérdésekkel. Miután koordinációs környezetben az imidazol koordinációjú komplexek hasonlítanak legjobban a CuZnSOD aktív centrumában kialakuló kötésekhez, az imidazol koordinációjú komplexek vizsgálata volt a középpontban. A CV vizsgálatoknál viszonylag egyszerűen megoldható volt a paraméterek meghatározása, mert az alkalmazott Cu(II)-ligandum arányánál és koncentrációjánál tudtunk olyan pH-t választani, ahol az adott 2,3 vagy 4 imidazol koordinációjú komplex volt jelen közel 100 %-ban, és az itt felvett ciklikus voltammetriás görbéket és a belőle meghatározható paramétereket rendeltük az adott komplexhez.

A SOD-aktivitás vizsgálatok esetén azonban egészen más a helyzet. A vizsgálatokat minden esetben ugyanannál a két pH-nál végeztük (pH=6,8 vagy pH=7,4), az oldatok pH-ját foszfát-pufferrel állítottuk be. Ahogy a körülményeknek megfelelő eloszlási görbék mutatják, az adott minták biztos, hogy nem csak egyféle komplexet tartalmaztak, így a mért aktivitás értékek sem rendelhetők egyetlen komplexhez (és nem vethetők össze közvetlenül a komplexekre jellemző redoxi paraméterekkel sem). Ezért nagyon nehéz még megbecsülni is azt, hogy melyik komplex milyen SOD-aktivitással rendelkezik. Jól ismert, hogy magának a CuHPO_4 komplexnek is van SOD aktivitása, az ehhez képest mért nagyobb aktivitási adat utal arra, hogy a jelenlevő komplexek közül valamelyik vagy akár több is SOD-aktív.

Mi az imidazol koordinációjú komplexekre mért redoxi paraméterek alapján feltételeztük, hogy elsősorban ezen komplexek esetén mérhető SOD aktivitás. Ezt alátámasztani látszott az is, hogy ha az adott pH-n az imidazol-koordinációjú $[\text{CuL}]^{2+}$ komplexek egyensúlyi koncentrációjának a függvényében ábrázoljuk a SOD aktivitás értéket, akkor a koncentráció értékével arányosan nő a mért SOD aktivitás (1. ábra, (a), (b), (c), (d)).



1. ábra A relatív aktivitás értékének változása a $[\text{CuL}]^{2+}$ komplex egyensúlyi koncentrációjának függvényében (pH = 7,40, $c(\text{peptid}) = 2,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $c(\text{Cu(II)}) = 2,00 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$, $c(\text{PO}_4^{3-}) = 0,0500 \text{ mol/dm}^3$) (L = Ac-HGGH-NH₂ (a), Ac-HVVH-NH₂ (b), Ac-S2H3-NH₂ (c), Ac-S3H4-NH₂ (d), Ac-HGGGHGH-NH₂ (e),), Ac-HAAHGH-NH₂ (f), Ac-HAAHVH-NH₂ (g),)

Ezt követően további 3-hisztidint tartalmazó peptidek (Ac-HAAHGH-NH₂, Ac-HAAHVH-NH₂, Ac-HGGGHGH-NH₂) vizsgálatára került sor, és itt azt tapasztaltuk, hogy annak ellenére, hogy pH= 7,4-nél az [CuL]²⁺ komplex mennyisége kicsi és döntően már [CuH₋₁L]⁺ komplex van jelen, a korábbi peptidekéhez képest nagyobb SOD aktivitás volt mérhető (1. ábra, (e), (f), (g)). Ebből arra következtethetünk, hogy ez utóbbi komplexnek (is) van SOD aktivitása. Ezt egyébként a [CuH₋₁L]⁺ komplexekre meghatározott redoxi paraméterek alapján is feltételezhetjük.

Összességében így azt tudom válaszolni a kérdésre, hogy nem tudjuk egyértelműen hozzárendelni a SOD aktivitás értékeket valamely jelenlevő komplexhez, azt az oldatban jelenlevő összes részecske határozza meg. Azt gondolom, hogy ezek hatása összeadódik, de erre sem az irodalomban, sem a saját mérési adatainkban nem találtam bizonyítékot, és az eddigi tapasztalataim alapján nem is látom annak lehetőségét, hogy ezt bizonyítani lehetne a mi általunk vizsgált rendszerek esetén. Talán sok, hasonló koordinációs módú komplexeket tartalmazó rendszer szisztematikus vizsgálatából lehetne tendenciákat megállapítani a koordinációs mód és a SOD aktivitásra vonatkozóan.

Végezetül még egyszer köszönöm Prof. Speier Gábornak a bírálat elkészítését és javaslatát az értekezés nyilvános vitára bocsatására.

Debrecen, 2014. július 23.

Dr. Várnagy Katalin